



دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دانشکده پزشکی

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد قارچ شناسی پزشکی

عنوان:

شناسایی مولکولی و تعیین حساسیت مخمرهای جدا شده از بیماران مبتلا به واژینیت
های کاندیدایی راجعه و تعیین سطح ویتامین دی در سرم خون این بیماران در مقایسه
با افراد سالم

توسط: راحیل معانی شیرازی

استاد راهنما: دکتر سید امین آیت اللهی موسوی - دکتر کامیار زمردیان

سال تحصیلی: ۱۳۹۵-۱۳۹۶

چکیده

مقدمه: واژینیت یک بیماری متداول ناحیه ژنیتال می باشد که قارچ ها به ویژه کاندیدا دومین عامل شایع ایجاد کننده عفونت می باشند. فرم عود کننده بیماری حالتی است که شخص در طول سال چهار بار یا بیشتر به عفونت مبتلا شود. محصولات متفاوتی برای درمان کاندیدیازیس وجود دارد که به صورت خوراکی و موضعی مورد استفاده قرار می گیرند و شاهد ایجاد مقاومت های دارویی در این نوع عفونت می باشیم. پیشرفت های اخیر نشان دهنده تاثیر ویتامین دی بر القا سیستم ایمنی می باشد و ثابت شده است که کاهش سطح ویتامین D همراه با افزایش میزان عفونت ها و کاهش میزان بیان ژن های تولید کننده پپتیدهای ضد میکروبی می باشد. بدین منظور این مطالعه با هدف تعیین سطح ویتامین D (۲۵-OH Vit D) در مبتلایان به فرم راجعه واژینیت کاندیدیایی در مقایسه با گروه کنترل و شناسایی مخمرهای جدا شده و مقاومت دارویی آنها به ترکیبات ضد قارچ رایج طراحی شده است.

مواد و روش ها: در این پژوهش ۴۳ نفر با علائم بالینی مورد تایید متخصص زنان و نتیجه کشت مثبت از نظر مخمر کاندیدا و بر اساس معیار های ورود به مطالعه انتخاب شدند. نمونه گیری بوسیله سواب استریل توسط پزشک انجام شد و نمونه ها به محیط کروم آگار انتقال داده شد. شناسایی اولیه گونه ها بواسطه رنگ ایجاد شده بر روی محیط کروم آگار انجام شد. به کمک روش استخراج حرارتی، استخراج DNA ژنومی مخمرها انجام شد و در مرحله بعد بوسیله واکنش زنجیره پلیمرز تکثیر شدند و در مرحله بعد تعیین توالی نوکلئوتیدی محصولات انجام گرفت و کلنی ها بصورت اختصاصی تعیین گونه شدند. همچنین ارزیابی حساسیت دارویی مخمرهای جدا شده به استفاده از روش دیسک دیفیوژن انجام شد. تعیین تیترو ویتامین دی نیز در افراد بیمار و سالم بوسیله روش الیزا انجام گرفت.

یافته ها: در این پژوهش بر اساس نتایج تعیین توالی، کاندیدا آلبیکنس با فراوانی (۵۸٪) شایع ترین گونه جدا شده بود و پس از آن کاندیدا گلابراتا و کاندیدا پاراپسیلوزیس به ترتیب با فراوانی (۱۶/۲۷٪) و (۱۳/۹٪) در مرتبه بعدی قرار داشتند. همچنین در دو مورد (۴/۶٪) مخمر پیکیا کودریاوی و یک مورد (۲/۳٪) کاندیدا دابلینینسیس و یک مورد (۲/۳٪) مخمر کلورمایسس مارکسیانوس جدا و شناسایی گردید. همچنین از گونه ی نادر کاندیدا آفریکانا تعداد دو نمونه با

فراوانی (۴/۶٪) مشاهده شد. میزان ویتامین دی در سرم خانم های مبتلا به کاندیدیازیس راجعه و گروه کنترل در افراد سالم برابر $9/16 \pm 4/05$ و در بیماران $4/53 \pm 9/08$ نانوگرم بر میلی لیتر تعیین گردید که از نظر آماری (T-test) اختلاف معنی داری با هم داشتند ($P < 0.01$). میانگین سرمی ویتامین دی در خانمهای مبتلا به کاندیدا آلبیکنس برابر $4/34 \pm 9/18$ نانوگرم بر میلی لیتر و در خانمهای مبتلا به کاندیدیازیس غیر آلبیکنس برابر $5/08 \pm 8/84$ نانوگرم بر میلی لیتر بود که از نظر آماری تفاوت معنی داری نداشتند ($P > 0.05$). هیچ گونه مقاومتی در مخمرهای جدا شده به آنتی بیوتیک های فلوکونازول، ایتراکونازول، کتوکونازول و نیستاتین دیده نشد و تعداد ۳ نمونه (۶/۹٪) به داروی ایتراکونازول و به دارو های فلوکونازول و کتوکونازول و نیستاتین هر کدام یک نمونه (۲/۳٪) حساسیت بینایی نشان دادند.

نتیجه گیری: در این مطالعه شایعترین گونه کاندیدایی جدا شده از ولوواژینیت کاندیدایی، کاندیدا آلبیکنس و کاندیدا گلابراتا دومین گونه شایع بود. حضور دو مخمر پیکیا و کلورمایس نشان دهنده افزایش گونه های غیر کاندیدا البیکنس است. سطح سرمی پابین ویتامین دی در سرم افراد بیمار در مقایسه با افراد سالم نشان دهنده اثربخشی مثبت این ویتامین در بهبود عملکرد سیستم ایمنی می باشد.

کلید واژه: واژینیت کاندیدایی راجعه، ویتامین دی، کاندیدا آفریکانا

Abstract

Introduction: Vaginitis is a common disease of the genital area, where fungi, especially Candida, are the second leading cause of infection. The recurrence form of the disease is a condition that affects women four or more times yearly. Different products are available for the treatment of candidiasis that are used orally and topically. Drug resistance in this type of infection seems to be growing. Recent developments reflect the effects of vitamin D on immune system induction, and it has been shown that vitamin D levels are associated with an increase in infections and a reduction in the expression of genes producing antimicrobial peptides. The aim of this study was to determine the level of vitamin D in patients with recurrent vaginitis in

comparison with the control group and to identify the isolated yeasts and their antimicrobial resistance to common antifungal compounds.

Materials and methods: In this study 47 women with clinical signs approved by gynecologist and the result of the positive culture in terms of Candida yeast were selected based on inclusion criteria. The physician sampled sterile swabs and they transferred to the chromogen agar medium. After distinguishing colonies based on distinct colors, the genomic DNA was extracted by heat extraction, and then by Polymerase chain reaction was amplified and at the next stage, the nucleotide sequencing of the products was carried out and the species were specifically identified. In addition, the susceptibility of the isolated yeasts to disk diffusion method was evaluated. Determination of vitamin D titers was done by ELISA in healthy and also patients.

Results: In this study, *Candida albicans* was the most common species by frequency of 58% , followed by *candida glabrata* and *candida parapsilosis* with 16,22% and 13,9%, respectively. In addition, in two cases, (4,6%) yeast was *Pichia kudriavzei*, one case (2,3%) was *Candida dubliniensis*, and one case (2,3%) was *Kluyveromyces marxianus*. The level of vitamin D in the serum of the control group was $16,0 \pm 9,16$ and in the patients was $9,08 \pm 4,39$ ng / ml, which was statistically different ($p < 0.01$). No resistance observed in the yeast isolated to fluconazole, itraconazole, ketoconazole and nystatin. Three samples (6,9%) were intermediate to Itraconazole, to each one of fluconazole, ketoconazole and nystatin we had one sample (2,3%) with cross-sensitivity. The mean serum vitamin D levels in women with *Candida albicans* was $9,18 \pm 4,34$ ng / ml and in women with non-albicans candidiasis was $8,84 \pm 0,08$ ng / ml, which was not statistically significant ($P > 0,05$).

Conclusion: In this study, the most common candida species from Vulvovaginitis Candidiasis; was *Candida albicans* and *Candida glabrata* was the second common species. The presence of two species of *Pichia kudriavzevii* and *Kluyveromyces marxianus* indicates an increase in non-albicans species. Lower serum levels of vitamin D in the serum of patients compared with patients indicate a lack of vitamin D in improving immune function.

Key word: recurrent candida vaginitis, vitamin D, *Candida africana*



Kerman university of medical sciences

Faculty of Medicine

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

(MSC)

Title:

Molecular identification and antifungal susceptibility of yeasts isolated from recurrent candida vaginitis and determine the level of vitamin D in the blood serum of these patients in comparison with healthy individuals

BY:

Rahil Maani Shirazi

Supervisors:

١-Dr. Seyyed Amin Ayatollahi Mousavi

٢-Dr. Kamyar Zomorodian

Year:

٢٠١٨